

Aus dem Pathologischen Institut der Johannes-
Gutenberg-Universität Mainz

HISTOCHEMISCHES VERHALTEN OXIDATIVER ENZYME
IN DYSPLASIEN UND TUMOREN DER
MENSCHLICHEN BRUSTDRÜSE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Ingala Dunkel-Lazar
aus Wolfenbüttel

Mainz 1975

1976

Aus dem Pathologischen Institut der Johannes-
Gutenberg-Universität Mainz

HISTOCHEMISCHES VERHALTEN OXIDATIVER ENZYME
IN DYSPLASIEN UND TUMOREN DER
MENSCHLICHEN BRUSTDRÜSE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Ingala Dunkel-Lazar
aus Wolfenbüttel

Mainz 1975

Fachbereichsdekan: Professor Dr. R. Wolf

Referent : Professor Dr. A. Schäfer

Korreferent : Professor Dr. R. Bässler

Tag der mündlichen Prüfung: 24. März 1976



GLIEDERUNG

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. MATERIAL UND METHODIK	3
III. ERGEBNISSE BISHERIGER UNTERSUCHUNGEN	7
IV. ERGEBNISSE EIGENER UNTERSUCHUNGEN	16
1. Enzymmuster der normalen Mamma	16
2. Enzymmuster des Fibroadenoms	18
3. Enzymmuster der Mastopathia chronica fibrosa et cystica	21
4. Enzymmuster des Karzinoms	28
V. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	36
VI. ZUSAMMENFASSUNG	45
VII. LITERATURVERZEICHNIS	47

Lebenslauf

Verwandte Abkürzungen:

MAO = Monoaminoxidase

HBDH = Beta-Hydroxy-Butyrat-Dehydrogenase

SDH = Succinatdehydrogenase

G6PD = Glucose-6-Phosphatdehydrogenase

LDH = Lactatdehydrogenase

I. EINLEITUNG

Enzymhistochemische Methoden werden seit ihrem Bestehen bei der Erforschung menschlicher Tumoren angewandt, in der Hoffnung und mit dem Ziel, dabei qualitative und quantitative Unterschiede aufzudecken, die in der Differentialdiagnose von Tumoren, zur Unterscheidung von benignem und malignem Wachstum, verwertet werden könnten (Willighagen 1970). Zur Erreichung dieses Ziels ist es notwendig, einen Überblick über die verschiedensten Enzymaktivitäten in einer recht großen Anzahl von Tumoren und verschiedenen Geschwulsttypen (Willighagen 1973) und auch im normalen Gewebe (Dawson 1967) zu gewinnen.

Menschliche Mammatumoren sind bisher nur in geringem Umfang enzymhistochemisch untersucht worden. Gewisse auch klinisch bedeutsame Fragen zu geschwulstartigen Veränderungen der Mamma sind nach wie vor ungeklärt; dazu gehören der Zusammenhang zwischen der Mastopathia chronica fibrosa et cystica und dem Mammakarzinom, wenn auch viele Autoren heute in gewissen Mastopathieformen eine fakultative, also nicht obligate Präkanzerose sehen, und die Frage, wie die Fehldiagnose eines Karzinoms bei einer sklerosierenden Adenose sicher zu vermeiden sei.

Mit der vorliegenden Untersuchung soll ein Beitrag zur Erweiterung der Kenntnisse über das enzymhistochemische Verhalten gutartiger und bösartiger Mammatumoren im Vergleich zu Dysplasien geleistet werden und dabei der Frage nachgegangen werden, ob es gruppenspezifische Unterschiede im Enzymmuster gibt. Die enzymhistochemische Methodik bietet den Vorteil einer genauen Lokalisation der enzymaktiven Strukturen im Gewebe. Somit können Verteilungsunterschiede zwischen denselben Strukturen und den verschie-

denen Gewebsbestandteilen studiert werden. Gewisse Enzyme stehen aufgrund der WARBURG'schen Vorstellungen über den Tumorstoffwechsel und die bei der Cancersierung erfolgenden Veränderungen (Warburg 1956) seit jeher im Mittelpunkt der Tumorforschung. So erscheinen die Lactatdehydrogenase als Vertreter der anaeroben Glykolyse und die Succinatdehydrogenase, die eine Verbindung zwischen Zitronensäurezyklus und Atmungskette im Zellstoffwechsel darstellt, besonders interessant. Drei weitere Dehydrogenasen werden in der vorliegenden Arbeit untersucht: die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase ist das Schrittmacherzentrum des Pentosephosphat-Shunts, der neben der Glykolyse einen alternativen Stoffwechselweg für die Glucose darstellt. Mit der Beta-Hydroxy-Butyrat-Dehydrogenase und der Monoaminoxidase werden Beziehungen zum Stoffwechsel anderer Substanzen als der Kohlehydrate hergestellt. Die MAO ist in den Aminosäurestoffwechsel eingeschaltet; sie bildet aus Monoaminen, Abbauprodukten von Aminosäuren, niedrigere Amine oder Aldehyde. Die HBDH ist am oxidativen Abbau der Fettsäuren beteiligt.

II. MATERIAL UND METHODE

Die Untersuchungen wurden an 62 im Jahre 1973 zur Schnellschnittuntersuchung eingesandten Biopsieproben der menschlichen weiblichen Mamma durchgeführt. Die Gewebeproben entstammten Patientinnen im Alter von 20 bis 83 Jahren.

Ein Teilstück von etwa 1,5 x 1,5 x 1,5 cm Kantenlänge wurde sofort mit Kohlendioxid auf einen Kryostat tisch aufgefroren, anschließend kurze Zeit im Kryostaten (System: Dittes-Dispuva) bei -24°C aufbewahrt und bei -34°C in 8 μ dicke Serienschnitte geschnitten. Die Schnitte wurden auf einen Objektträger montiert und bis zur Inkubation im Kühlschrank aufbewahrt. Unmittelbar vor der Inkubation wurden sie kurz aufgetaut und luftgetrocknet. Die Inkubationslösungen wurden vor Beginn der Versuche in größeren Mengen hergestellt, in kleinen Portionen abgefüllt und bei -40°C eingefroren aufbewahrt. So war für jeden Inkubationsgang die gleiche Zusammensetzung der Lösung gewährleistet.

Folgende Enzyme wurden dargestellt:

1. die Monoaminoxidase nach GLENNER et al. (1957), modifiziert nach MEIER-RUGE et al. (1971)
2. die Succinatdehydrogenase nach NACHLAS et al. (1957), modifiziert nach MEIER-RUGE et al. (1971)
3. die Beta-Hydroxy-Butyrat-Dehydrogenase nach PEARSE (1972)
4. die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase nach RUDOLPH u. KLEIN (1964)
5. die Lactatdehydrogenase nach NACHLAS et al. (1958)

Bei allen Nachweisverfahren wurde das Tetrazoliumsalz Nitro-BT verwandt. Die Inkubationszeiten wurden aufgrund von Vorversuchen folgendermaßen festgelegt: MAO - 4 Stunden, SDH - 4 Stunden, HBDH - 2 Stunden, G6PD - 2,5 Stunden, LDH - 3 Stunden.

Die Auswertung der Enzymfärbungen erfolgte unter dem Lichtmikroskop. Der durch die Formazangranula hervorgerufene Farbniederschlag wurde seiner Intensität entsprechend in verschiedene Reaktionsstärken eingeteilt; seine Verteilung im Gewebe wurde nach dem von PFLEIDERER et al. (1969) angegebenen Vorgehen registriert. So wurden der optische Gesamteindruck der Reaktionsstärke, die Verteilung der Reaktionsprodukte im gesamten Tumorparenchym sowie in den einzelnen Arealen und Zellen und die Verteilung des Farbniederschlags im Stroma für jeden Fall gesondert erfaßt.

Die morphologische Klassifizierung der Biopsieproben erfolgte anhand von Haematoxylin-Eosin-Färbungen von Gefrierschnitten und Paraffinschnitten. Das Untersuchungsmaterial bestand aus 4 Fibroadenomen, alle vom intrakanalikulären Typ, 26 zur Gruppe der Mastopathia chronica fibrosa et cystica gehörenden Veränderungen und 32 Karzinomen. Die Mastopathien und Karzinome wurden - nach den vorherrschenden typischen Strukturen bzw. Wachstumsformen - in verschiedene Untergruppen eingeteilt. Die folgende Übersicht (Tabelle 1) erfaßt das gesamte Untersuchungsgut, in Gruppen geordnet, Fall für Fall. Einige Mastopathieproben sind in mehreren Untergruppen zugleich vertreten, in diesen Präparaten fanden sich verschiedenartige typische Strukturen nebeneinander. Für wenige Fälle lagen keine Angaben über das Alter der Patientin vor.

Tabelle 1

PATHOLOGISCHE VERÄNDERUNG	ALTER Jahre	JOURNAL-NR.	GESAMT - ZAHL
Fibroadenom	27	2291/73	4
	44	6557/73	
	22	9689/73	
	35	13878/73	
Mastopathien mit überwiegender Fibrosierung	39	1614/73	17
	58	3135/73	
	46	4024/73	
	45	4892/73	
		5317/73	
	49	5548/73	
	53	5853-54/73	
	44	6245/73	
	30	6685-86/73	
	50	6886/73	
	57	7499/73	
	45	8228/73	
	35	9690/73	
		10616/73	
	48	11908/73	
	28	12945/73	
	32	15126/73	
mit überwiegender Zystenbildung	53	5853-54/73	11
	26	6669/73	
	30	6685-86/73	
	51	6819/73	
	45	8228/73	
	45	10500/73	
	20	10609/73	
	50	11373/73	
	52	11635/73	
	47	11877/73	
	36	13235/73	
mit Epithelproliferationen	53	5853-54/73	4
	26	6669/73	
	20	10609/73	
	36	13235/73	
mit Papillomatosis und sklerosierender Adenose	62	10173/73	1

Tabelle 1 (Fortsetzung)

PATHOLOGISCHE VERÄNDERUNG	ALTER Jahre	JOURNAL-NR.	GESAMT- ZAHL
CARCINOME			32
Carcinoma solidum simplex	80 83 66 68 71	7569/73 9839/73 13360/73 14236/73 14255/73	5
Carcinoma solidum scirrhosum	61 73 68 77 53 52 65 52 73 62 64	3874/73 4217/73 4261/73 7167/73 7198/73 8089/73 12160/73 12365/73 13251/73 14241/73 16207/73 16320/73 17051/73	13
Carcinoma solidum medullare	78 35 74 57 53 44 51 50 68	2710/73 5747/73 8229/73 9624/73 10174/73 10592/73 11519/73 12949/73 13093/73	9
Carcinoma gelatinosum	69	6246/73	1
Comedocarcinom	65 26	7289/73 13895/73	2
Adenocarcinom	59 76	2811/73 9049/73	2

III. ERGEBNISSE BISHERIGER UNTERSUCHUNGEN

Enzymhistochemische Untersuchungen von pathologisch verändertem menschlichen Mammagewebe wurden bisher mit teilweise sehr unterschiedlichen Fragestellungen und je nach Enzym in ganz verschiedenem Ausmaß durchgeführt.

Die Monoaminoxidase wurde von MORI et al. (1970) an 54 Mastopathien und 40 Mammakarzinomen dargestellt. Generell fiel die Reaktion an den Epithelzellen sehr schwach bis mäßig aus. Zwischen gutartigen und bösartigen Tumoren traten weder Unterschiede in der Enzymlokalisation noch im Aktivitätsgrad auf.

Die Beta-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase wurde von DAWSON (1967) in normalem menschlichen Mammagewebe, in Fibroadenomen, Karzinomen und bei der sklerosierenden Adenose untersucht. Die Milchgänge und Alveolen variierten stark in der Enzymaktivität, proliferierende Zellen zeigten allerdings im allgemeinen eine intensivere Reaktion. MELNICK (1965) untersuchte 2 Fibroadenome und 23 Karzinome. Undifferenzierte Karzinome wiesen gegenüber den übrigen Tumoren häufig Enzymdefekte auf; die verschiedenen Tumoren zeigten bedeutende Unterschiede in der Reaktionsstärke. Demgegenüber fanden MONIS, NACHLAS und SELIGMAN (1959) bei 3 Karzinomen eine in allen Karzinomen einheitliche, schwache Enzymaktivität.

Bei der Darstellung der Succinatdehydrogenase konnten von den meisten Untersuchern, die sowohl Dysplasien als auch gutartige und bösartige Tumoren untersuchten, keine nennenswerten Unterschiede in der Lokalisation und der Stärke der Enzymaktivität festgestellt werden (Foraker 1956; Harcourt-Webster und Truman 1969; Jensen 1970; Monis, Nachlas und Seligman 1959; Pakdaman und Stein 1963; Wandrey (1961). Bei der Untersuchung von normalem Mammagewebe

und Tumoren fanden WACHSTEIN, MEISEL und FALCON (1959) im Gegensatz zu einer einheitlichen, mäßigen Aktivität von normalen Alveolen und Milchgängen eine sehr stark variierende, mit allen Reaktionsstärken vertretene Enzymaktivität bei den Karzinomen; Karzinome mit auffallender Anaplasie hoben sich durch eine ziemlich starke Reaktion hervor. Eine Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad der Mammakarzinome entdeckten MEIER-RUGE (1966) und MELNICK und BULLOCK (1959): einer recht hohen Enzymaktivität bei Adenokarzinomen stand eine niedrige oder auch gar keine bei soliden Karzinomen gegenüber. Hier ist auch der Befund von MELNICK (1965) einzuordnen, der - wie für LDH und HBDH - auch für die SDH bei undifferenzierten Karzinomen im Gegensatz zu differenzierten Karzinomen und zu Fibroadenomen häufig Enzymdefekte nachweisen konnte. Variationen in der Reaktionsstärke der Karzinomzellen innerhalb ein- und desselben Tumors fanden FORAKER (1956), MONIS et al. (1959); Pakdaman und STEIN (1963) sahen ein solches "fleckiges" Verteilungsmuster des Niederschlags nicht nur beim Karzinom, sondern auch bei der Mastopathie. Bei einem Teil der von ihm untersuchten Karzinome konnte auch MEIER-RUGE (1966) eine stark wechselnde Enzymaktivität in den verschiedenen Tumorabschnitten beobachten. An für die Mastopathie typischen Strukturen konnten HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969) sowie PAKDAMAN und STEIN (1963) folgendes Enzymverhalten nachweisen: Aktivitätsminderung des Epithels von weiten Gangzysten, bei HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN mit zunehmender Dilatation; bei Mastopathien mit Stromafibrose eine umso niedrigere Aktivität von Alveolen und Zysten, je stärker die Fibrose ausgeprägt war (Harcourt-Webster und Truman); sehr intensive Aktivität von hyperplastischen Läppchen (Pakdaman und Stein); höchste Enzymaktivität bei den Onkozyten

(Harcourt-Webster und Truman). Die Angaben über das Bindegewebsverhalten, sei es bei gutartigen oder bösartigen Tumoren (Foraker 1956; Hecker 1972; Monis et al. 1959; Okamoto 1966; Pakdaman und Stein 1963; Wachstein et al. 1959; Wandrey 1961), sind etwas divergent, da Vergleichen mit den Drüsenepithelien absolute Aktivitätsangaben gegenüberstehen. Die absolute Enzymaktivität war entweder schwach oder negativ; verglichen mit den Drüsenepithelien verhielten sich die Bindegewebszellen immer weniger aktiv. OKAMOTO (1966) widmete seine Studie allein dem Bindegewebsverhalten; er entdeckte dabei Aktivität von faserigen Elementen (die Zellen waren stets inaktiv).

Die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase wurde in gutartigen Veränderungen von COHEN (1964), HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969), JENSEN (1970) und MORI et al. (1966) dargestellt. Das Verhalten der Fibroblasten entsprach bei COHEN in etwa dem des normalen Mammagewebes, gelegentlich fand sich im Vergleich mit dem restlichen Stroma eine stärkere Aktivität des "Mantelgewebes". Im Gegensatz dazu konnten MORI et al. keine Stromaaktivität feststellen; der Farbniederschlag in den Drüsen- und Milchgangsepithelien war meist mäßig. Bei den Mastopathien fiel ein markanter Anstieg der Enzymaktivität bei intrazystischen und intraductalen Epithelproliferationen auf (Cohen 1964; Jensen 1970). Onkozyten zeigten eine besonders intensive Reaktion (Harcourt-Webster und Truman 1969; Jensen 1970). Die Aktivität von nichtproliferiertem Epithel, Alveolen und Zysten war nur schwach. HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN konnten einen der Zystenweite parallelen Aktivitätsabfall beobachten; die niedrigsten Aktivitätswerte sahen sie bei Vorherrschen der

Stromafibrose. Das Verhalten des Bindegewebes bei Mastopathien wurde nur von COHEN (1964) und OKAMOTO (1966) beschrieben; die Zellen reagierten stets nur schwach, nach OKAMOTO auch die Fasern. Das enzymhistochemische Verhalten von Karzinomen untersuchten COHEN (1964), HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969), JENSEN (1970), MEIER-RUGE (1966), MORI et al. (1963), MORI et al. (1966) und OKAMOTO (1966). Bei COHEN zeigten die Karzinomzellen der szirrhösen Karzinome meist ein Verhalten wie normale Drüsen- und Milchgangszellen, bei den medullären Karzinomen war die Aktivität meist mäßig gesteigert; Karzinomzellen von Gallertkrebsen reagierten wesentlich intensiver, am stärksten enzymaktiv verhielten sich die intraductalen Tumorsprossen der Komedokarzinome; in demselben Präparat auftretende invasiv wachsende Zellen zeigten stets viel schwächere Aktivität. HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969) fanden ebenfalls eine dem normalen Mammaparenchym entsprechende, teilweise auch geringfügig stärkere Aktivität der Karzinomzellen; die Reaktionsstärke sank mit zunehmendem Differenzierungsgrad ab. JENSEN (1970) wies an den Tumorzellen, verglichen mit den Drüsenepithelien bei der Mastopathie, meist eine niedrigere Aktivität nach; in einigen Ausnahmen fiel die Reaktion aber gleich oder sehr viel stärker aus. MEIER-RUGE (1966) stellte an 178 Karzinomen höhere Aktivitäten der G6PD gegenüber den am Zitronensäurezyklus beteiligten Dehydrogenasen fest. Insgesamt bot sich ein relativ gleichförmiges Bild; bei einem Teil der Karzinome (12%) fand sich jedoch eine stark wechselnde Enzymaktivität in den verschiedenen Tumorabschnitten; gelegentlich sah er eine Betonung der stromanahen Karzinomzellen durch vermehrten Farbniederschlag. MORI et al. (1963, 1966) sahen Reaktionsausfälle in allen Aktivitätsgraden.

Bei infiltrierenden Karzinomen fanden sie 1966 eine höhere Aktivität als bei intraductal wachsenden.

Über das Stromaverhalten der Tumoren werden ebenfalls teilweise konträre Aussagen gemacht: COHEN (1964), JENSEN (1970), MORI et al. (1963, 1966) sahen nie eine positive Reaktion, während OKAMOTO (1966) meist eine positive Reaktion von Zellen und Fasern der Stromas nachweisen konnte, die bei den Karzinomen im allgemeinen etwas stärker ausfiel als bei den gutartigen Tumoren.

Die Lactatdehydrogenase verhielt sich beim Fibroadenom in den gewucherten Epithelien der Drüsen und Milchgänge meist recht stark aktiv; im Bindegewebe traten nur vereinzelt Granula auf, dabei wurde das perikanalikuläre Stroma gering bevorzugt (Hecker 1972 a und b). Einen entsprechenden Befund an den Epithelzellen erhoben HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969) und MORI et al. (1966); MORI und Mitarb. fanden unter 9 Fibroadenomen allerdings auch 5 mit nur mäßiger Aktivität, im Stroma sahen sie wechselnde Farbniederschläge. OKAMOTO (1966) wies eine positive Reaktion der Zellen und Fasern im Stroma nach, die auch bei den Mastopathien auftrat. Bei den Mastopathien unterschied HECKER (1972 a und b) nach der Intensität der Granulaablagerung zwei Gruppen: der proliferative Typ zeigte einen recht starken Farbniederschlag im Parenchym, beim ruhenden Typ fiel die Reaktion deutlich schwächer aus; das Stroma verhielt sich meist nur wenig enzympositiv, etwas aktiver war es in der Nachbarschaft von aktivierten Drüsen und Gängen. Eine mäßige bis starke Enzymaktivität der Drüsen- und Gangepithelien fanden HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969), sie war vom Grad der Fibrose oder Adenose unabhängig; Zysten zeigten mit zunehmender Dilatation eine Abnahme der Epithelaktivität; Epithelproliferationen und Onkozyten reagierten

stark positiv. JENSEN (1970) wies den höchsten Enzymgehalt in Epithelproliferationen nach, allerdings bestand gegenüber dem nichtproliferierten Epithel nur ein geringer gradueller Unterschied; Fibroblasten und Gefäße reagierten schwächer als das Parenchym. Bei den von HECKER (1972 a und b) untersuchten Karzinomen fand sich ein recht intensiver Farbniederschlag in den Tumorzellen, in infiltrativ wachsenden Tumorbezirken war er ganz besonders auffallend; das Stroma reagierte stets schwächer. HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969) fanden bei den soliden Karzinomen mit zunehmendem Differenzierungsgrad einen Anstieg der Enzymaktivität bis auf sehr hohe Werte; Komedokarzinome und anaplastische Karzinome verhielten sich mäßig bis stark enzympositiv, die beiden untersuchten Gallertkarzinome zeigten unterschiedliche Farbniederschläge. MELNICK (1965) wies ebenfalls eine Abhängigkeit der Aktivität vom Differenzierungsgrad nach: entdifferenzierte Karzinome zeigten häufig keinerlei Formazanniederschlag. JENSEN (1970) fand in den Karzinomen generell einen hohen Enzymgehalt, verglichen mit den Mastopathien war die Reaktion jedoch gleich intensiv, nur fiel bei den Karzinomen eine sehr ungleiche Verteilung des Farbniederschlags im Tumorgewebe auf. Diese Beobachtung machte auch MEIER-RUGE (1966) an einem Teil seines Untersuchungsgutes; die weitaus meisten der von ihm untersuchten Tumoren zeigten aber einen einheitlichen Farbniederschlag. MONIS et al. (1959) untersuchten zwei infiltrierend wachsende Karzinome, die sich deutlich in ihrer Reaktionsstärke unterschieden. MORI et al. (1966) fanden generell eine hohe Enzymaktivität, unabhängig davon, ob der Tumor intraductal oder infiltrativ wuchs; das Stroma variierte in seinem Enzymgehalt. Bei den von OKAMOTO (1966) untersuchten Karzinomen reagierte das Stroma im allgemeinen etwas stärker als bei den gutartigen

Tumoren, sowohl die Zellen als auch die Fasern verhielten sich positiv.

Die nachfolgende Zusammenstellung (Tabelle 2) vermittelt einen Überblick darüber, wieviele Fälle einer bestimmten Krankheitsgruppe von den einzelnen Autoren untersucht wurden und welche Enzyme dabei dargestellt wurden. Fehlende Zahlenangaben in der Literatur sind durch Fragezeichen gekennzeichnet.

Tabelle 2

PATHOLOGISCHE VERÄNDERUNG	AUTOR	FALLZAHL	ENZYME				
			MAO	SDH	HBDH	G6PD	LDH
FIBROADENOM	Cohen 1964	10				+	
	Dawson 1967	?	+	+	+	+	+
	Harcourt- Webster u. Truman 1969	9	+			+	+
	Hecker 1972 a	7					+
	Hecker 1972 b	7	+				+
	Melnick 1965	2	+	+			+
	Monis et al. 1959	1	+	+			+
	Mori et al. 1966	14				+	+
	Wachstein et al. 1959	?	+				
	Wandrey 1961	?	+				
MASTOPATHIE	Cohen 1964	40				+	
	Dawson 1967	?	+	+	+	+	+
	Foraker 1956	?	+				
	Harcourt- Webster u. Truman 1969	25	+			+	+
	Hecker 1972 a	10					+
	Hecker 1972 b	11	+				+
	Jensen 1970	20	+			+	+
	Mori et al. 1963	12				+	
	Mori et al. 1970	54	+				

Tabelle 2 (Fortsetzung)

PATHOLOGISCHE VERÄNDERUNG	AUTOR	FALLZAHL	ENZYME				
			MAO	SDH	HBDH	G6PD	LDH
KARZINOM	Cohen 1964	36				+	
	Dawson 1967	?	+	+	+	+	+
	Foraker 1956	22	+				
	Harcourt- Webster u. Truman 1969	43	+			+	+
	Hecker 1972 a	8					+
	Hecker 1972 b	8	+				+
	Jensen 1970	20	+			+	+
	Meier-Ruge 1966	178	+			+	+
	Melnick 1965	23	+	+			+
	Melnick u. Bullock 1959	18	+				
	Monis et al. 1959	4	+	+			+
	Mori et al. 1963	4				+	
	Mori et al. 1966	8				+	+
	Mori et al. 1970	40	+				
	Pakdaman u. Stein 1963	9	+				
	Wachstein et al. 1959	?	+				
	Wandrey 1961	?	+				

IV. ERGEBNISSE EIGENER UNTERSUCHUNGEN

1. Enzymmuster der normalen Mamma

Bei den untersuchten gutartigen Erkrankungen fanden sich in einigen Präparaten Bezirke, die bei Haematoxylin-Eosin-Färbung ein nicht pathologisch verändertes, weitgehend regelrecht erscheinendes Strukturmuster aufwiesen. Auf diese Bezirke beziehen sich die folgenden Beobachtungen:

a) Monoaminoxidase

Die Epithelien der Milchgänge und Drüsenendstücke zeigen eine nur sehr spärliche Ablagerung von zart-blauen Formazangranula im Zytoplasma; der Kern wird ausgespart, er erscheint als leerer Hohlraum. Das intra- und interlobuläre Bindegewebe verhält sich vollkommen enzymnegativ. Gefäße weisen eine ausgesprochen schwache Enzymreaktion auf.

b) Succinatdehydrogenase und Beta-Hydroxy-Butyrat-Dehydrogenase

Die Formazankristallablagerung findet sich in den Epithelzellen der Milchgänge und Alveolen; bei der SDH entspricht sie einer schwachen, bei der HBDH meist einer deutlich positiven Reaktion. Das intra-lobuläre Bindegewebe wird gegenüber dem übrigen enzymnegativen Stroma durch eine sehr zarte Granulaablagerung gekennzeichnet, die allerdings durch Diffusion bedingt sein dürfte. Gefäße verhalten sich positiv, allerdings in geringerem Maße als die Parenchymzellen (Abb. 1 und 2a).

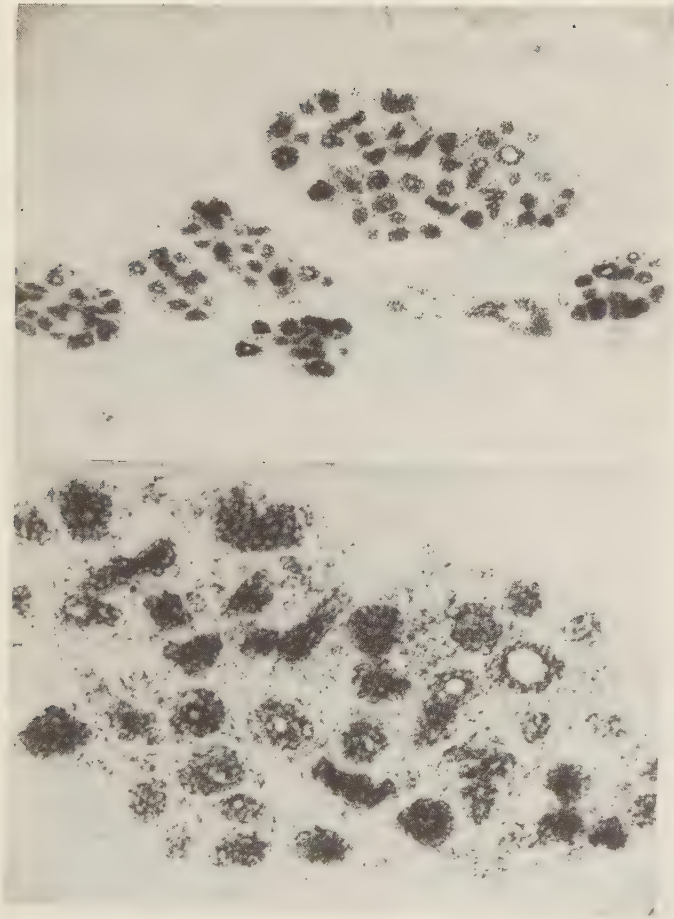


Abb. 1a und b: Histochemische Darstellung der SDH in normalen Endstücken in der Übersicht (a) und bei stärkerer Vergrößerung (b). Vergr. 90fach (a) und 180fach (b).

c) Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und
Lactatdehydrogenase

Die Lokalisation des Farbniederschlags entspricht den anderen Dehydrogenasen. Bei der G6PD findet sich eine schwache bis positive Formazanablagerung, bei der LDH eine deutlich positive bis stark positive. Sowohl intra- als auch interlobuläres Bindegewebe reagiert stets; neben den zelligen Bindegewebelementen scheinen sich auch faserige anzufärben. Das intralobuläre Bindegewebe wird färberisch hervorgehoben, bei der G6PD allerdings nur gering, bei der LDH hingegen sehr stark; die Farbintensität entspricht der des Drüsenparenchyms, dadurch kommt es zu einer deutlichen Markierung des Mantelgewebes durch die LDH. Gefäße verhalten sich positiv (Abb. 2b und 3).

Die intrazelluläre Lokalisation ist bei allen Enzymen stets die gleiche: die blauen Formazangranula verteilen sich diffus im Zytoplasma, der Kern bleibt ausgespart und stellt sich als leere Vakuole dar. Bei stärkerer Enzymaktivität, also einer vermehrten Ablagerung von Formazangranula, zeigt sich meist ein basales und ein apikales Farbdepot in der Zelle; die Drüsen und Milchgänge weisen dann eine lumennahe und eine basale Farbbande auf.

2. Enzymmuster beim Fibroadenom

Bei allen Dehydrogenasen finden sich mit einer Ausnahme stets Formazangranula in den Milchgangsepithelien, die MAO verhält sich in einem Fall völlig inaktiv. Zwischen

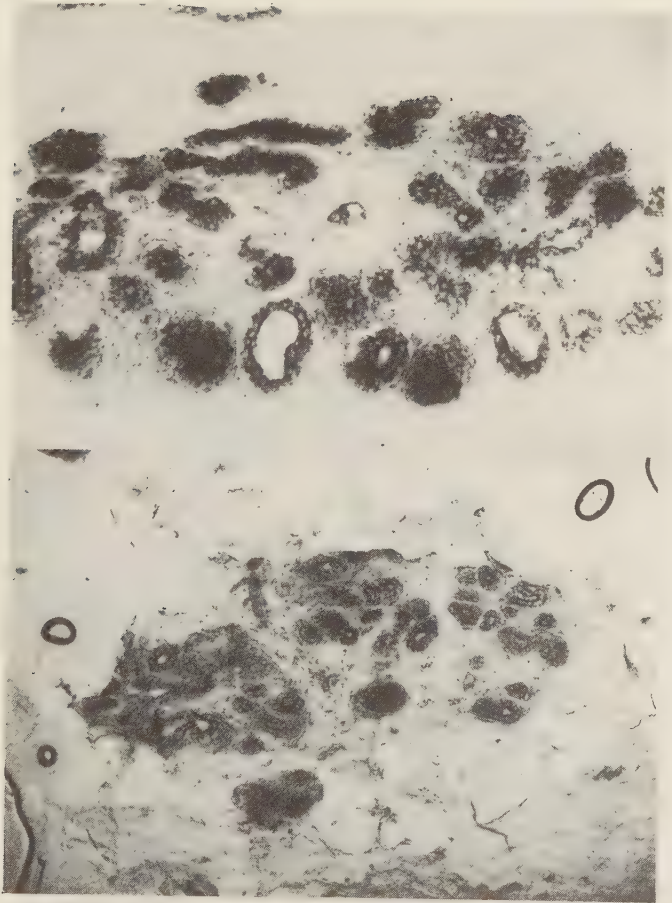


Abb. 2a und b: Histochemische Darstellung der HBDH (a) und der G6PD (b) in der normalen Mamma. Vergr. 180-fach (a) und 90fach (b).

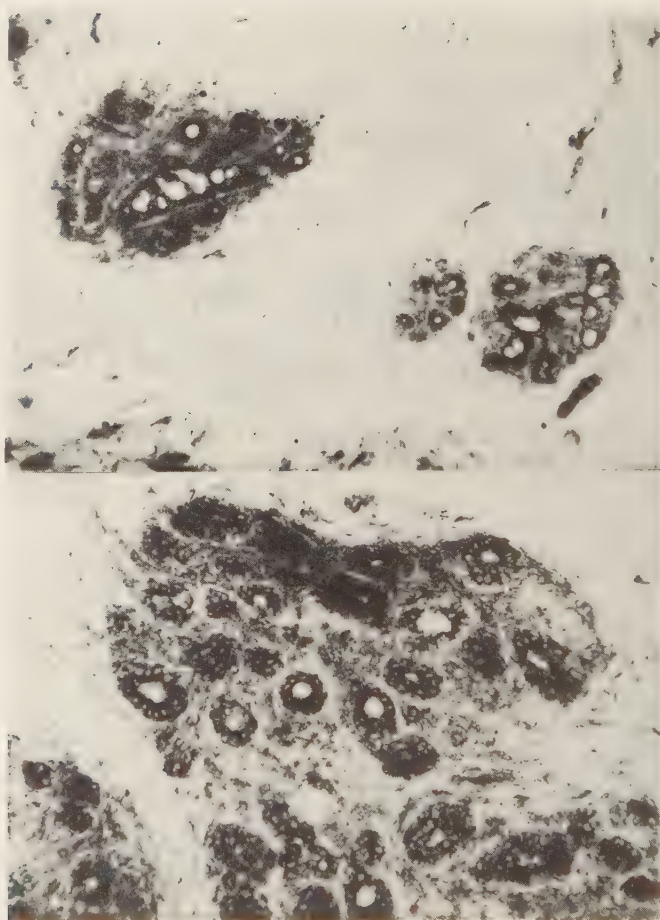


Abb. 3a und b: Histochemische Darstellung der LDH in der normalen Mamma in der Übersicht (a) und bei stärkerer Vergrößerung (b). Vergr. 90fach (a) und 180fach (b).

den gewucherten Milchgängen und normal erscheinenden Bezirken treten bei der MAO, SDH und HBDH keine Unterschiede in der Aktivität des Drüsenepithels auf. Bei der G6PD und LDH erscheinen die Epithelien der geschwulstartig veränderten Milchgänge etwas intensiver angefärbt. Zwischen den gewucherten Milchgängen selbst finden sich keine derartigen Unterschiede.

Das Stroma verhält sich bei der MAO, SDH und HBDH enzymnegativ. Dagegen zeigen bei der G6PD und LDH die zelligen Elemente des Bindegewebes (fraglich auch die Fasern) eine positive Reaktion, die schwächer ausfällt als die des Drüsenepithels (Abb. 4).

3. Enzymmuster bei der Mastopathia chronica fibrosa et cystica

Lokalisation und Intensität des Farbniederschlags entsprechen weitgehend dem Muster der normalen Mamma. Dies gilt für alle untersuchten Enzyme.

Als Besonderheiten der Mastopathie sind folgende Beobachtungen hervorzuheben:

a) Mastopathie mit überwiegender Fibrosierung

Monoaminoxidase

Von den 17 dieser Gruppe zugeordneten Präparaten zeigen 9 überhaupt keine Reaktion, während die anderen 8 Präparate in ihrem Enzymverhalten der normalen Mamma entsprechen. Diese 9 inaktiven Mastopathien zeigen meist eine recht stark ausgeprägte Fibrose.

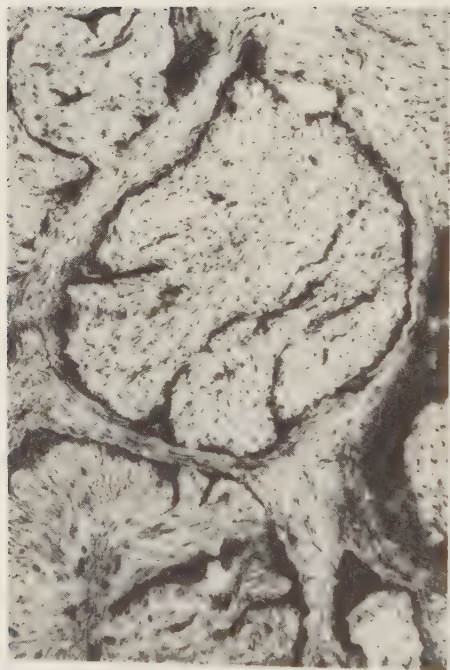


Abb. 4: Histochemische Darstellung der LDH in
einem Fibroadenom. Vergr. 120fach.

Lactatdehydrogenase

Mit zunehmender Fibrosierung geht das charakteristische färberische Verhalten des Mantelgewebes verloren; das intralobuläre Bindegewebe zeigt oft nur noch im Randbereich eine Formazanablagerung, bis auch diese völlig verschwindet und das Mantelgewebe wie interlobuläres Bindegewebe reagiert (Abb. 5a und b).

b) Mastopathie mit überwiegender Zystenbildung

Kleine, aus den Drüsenendstücken hervorgegangene Zysten sind meist genauso enzymaktiv wie unveränderte Alveolen. Dagegen findet sich im Epithel größerer Zysten im allgemeinen ein geringerer Formazanniederschlag. Bei der LDH ist dieser Aktivitätsverlust allerdings nur sehr diskret, manchmal gar nicht festzustellen. Bei einigen Fällen (6669/73, 6819/73, 10609/73) lassen sich außer verschiedenen großen Zysten auch solche mit unterschiedlich hohem Epithel nebeneinander beobachten. Mit zunehmender Ausweitung der Zysten und zunehmender Abflachung des Epithels scheint eine Abnahme der Enzymaktivität einherzugehen. Das unmittelbar an die Zysten grenzende Bindegewebe wird nicht enzymatisch hervorgehoben (Abb. 6 und 7).

c) Mastopathie mit Epithelproliferationen

In unserem Untersuchungsgut fanden sich insgesamt 4 Mastopathien mit Epithelproliferationen. In einem Fall (5853-54/73) waren es überwiegend solide, teils auch pseudopapilläre, intraductale Proliferationen

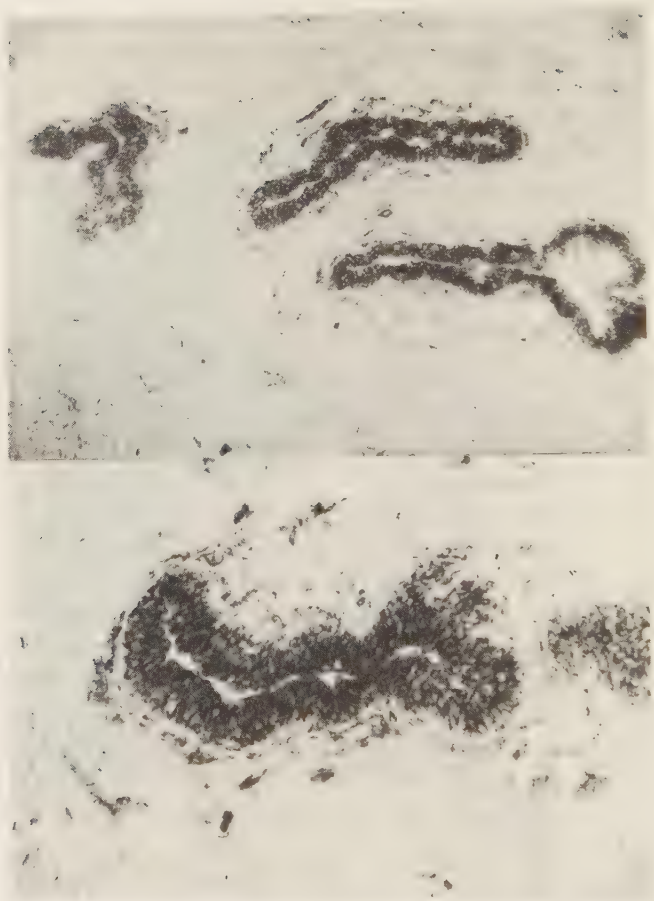


Abb. 5a und b: Histochemische Darstellung der LDH in einer Mastopathie mit überwiegender Fibrosierung in der Übersicht (a) und in einem Gang bei stärkerer Vergrößerung (b). Vergr. 120fach (a) und 240fach (b).

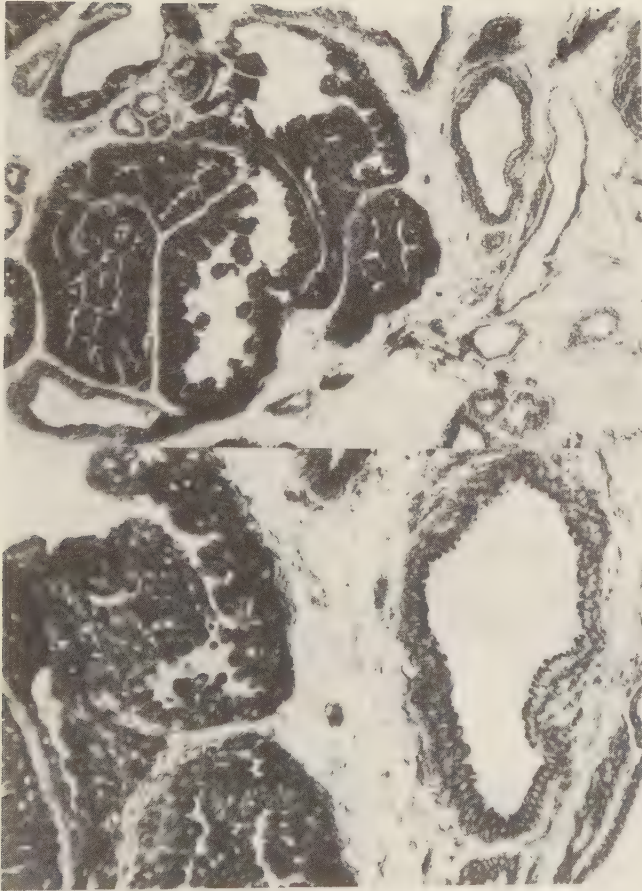


Abb. 6a und b: Histochemische Darstellung der LDH in einer Mastopathie mit onkozytären Epithelproliferationen in der Übersicht (a) und bei stärkerer Vergrößerung (b) im Vergleich mit einer einfachen Zyste. Vergr. 90fach (a) und 180fach (b).

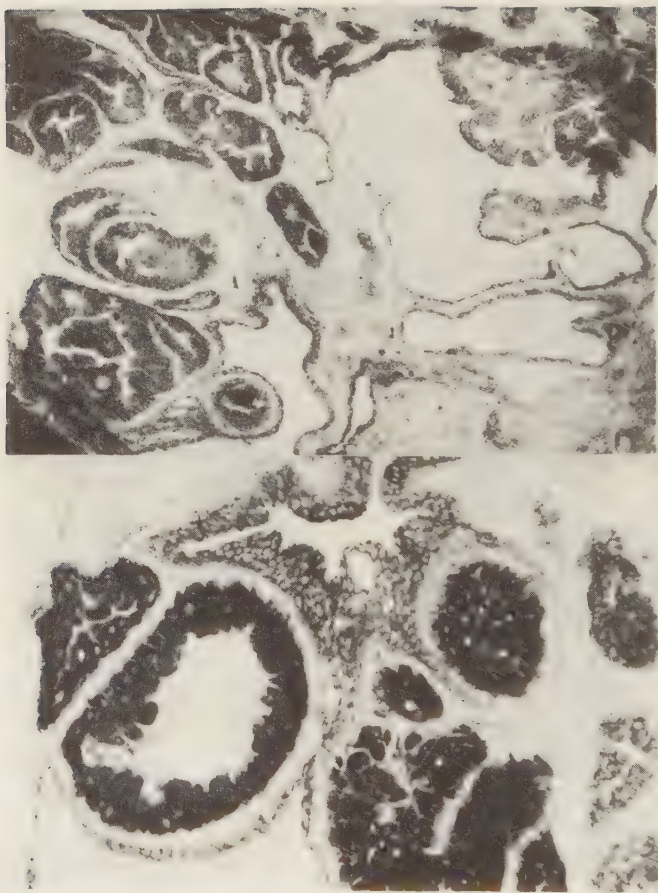


Abb. 7a und b: Histochemische Darstellung der HBDH (a) und der MAO (b) in einer Mastopathie mit onkozytären Proliferationen. Vergr. 120fach (a) und 180fach (b).

des regulären Gangepithels. Bei den übrigen 3 Fällen handelte es sich um onkozytäre Epithelproliferationen. Bei diesen Fällen fanden sich im Schnittpräparat auch Zysten mit einfacher onkozytärer Epithelauskleidung (ebenso auch bei 6819/73).

Intraductale nicht-onkozytäre Epithelproliferationen weisen im Vergleich zum nichtproliferierten Gangepithel bei der HBDH und MAO keinen Enzymaktivitätsunterschied auf (die SDH konnte nicht beurteilt werden). Bei der LDH und G6PD läßt sich eine geringfügige, letztlich jedoch nicht eindeutige Aktivitätssteigerung der Epithelproliferationen beobachten.

Onkozytäre Epithelproliferationen wie auch die Onkozyten selbst reagieren bei allen Enzymen stets deutlich stärker als das normale Epithel und die vorher beschriebenen nicht-onkozytären Epithelproliferationen. Sie werden durch die intensivste vorkommende Ablagerung von Formazangranula hervorgehoben. Zwischen einfacher onkozytärer Epithelauskleidung und onkozytären Proliferationen besteht kein Unterschied im Aktivitätsgrad (Abb. 6 und 7).

- d) Mastopathie mit Papillomatosis und sklerosierender Adenose

Das enzymatische Verhalten des Parenchyms und des Stromas entspricht dem der Mastopathie, ausgenommen die Papillomatosisherde. Diese zeigen bei der HBD, G6PD und LDH eine gesteigerte Aktivität, die bei der HBD und LDH weitgehend der

Onkozytenaktivität gleicht (bei der MAO und SDH konnte die Aktivität der Papillomatosisherde nicht ermittelt werden, da keine derartigen Bezirke in den Präparaten vorkamen).

4. Enzymmuster des Karzinoms

Alle Dehydrogenasen zeigen ein sehr ähnliches histochemisches Verhalten, sowohl im Hinblick auf die Topik wie die Aktivitätsverteilung. Deshalb werden sie gemeinsam beschrieben.

Die intrazelluläre Verteilung der Formazangranula in der Tumorzelle entspricht der in der normalen Drüsenzelle: der Kern ist stets ausgespart, die Granula sind diffus im Zytoplasma verteilt. Dadurch kommt es zu einem ausgesprochenen Wabenmuster der Tumorzellkomplexe, das aufgrund der verschieden großen und ungleich geformten Zellen und Kerne unruhig wirkt. Die Gefäße sind stets aktiv (ausgenommen die gänzlich inaktiven Präparate bei der MAO), aber in geringerem Grad als die Tumorzellen.

a) Solides Karzinom

Zwischen den verschiedenen Wachstumsformen - medullär, szirrhös, simplex - ergeben sich keine topischen oder quantitativen Unterschiede; sie werden deshalb gemeinsam dargestellt.

Bei der MAO ist die überwiegende Zahl der untersuchten Karzinome inaktiv (21 von 27); die restlichen Tumoren zeigen in 3 Fällen eine Niederschlags spur in den Karzinomzellen, die übrigen Karzinome reagieren etwas stärker.

Bei der SDH, HBDH, G6PD, LDH und in den wenigen MAO-positiven Fällen heben sich die Tumorzellen durch ihr färberisches Verhalten stets gegenüber dem Bindegewebe hervor. Das Stroma weist bei der MAO stets, bei der HBDH und SDH nahezu immer, keine Reaktion auf (bei den beiden letztgenannten Enzymen treten vereinzelt zarte Granula im Bindegewebe auf, es dürfte sich dabei aber eher um Diffusionsfolgen als um eine sicher spezifische Reaktion handeln). Bei G6PD und LDH verhalten sich Zellen und Fasern des Stromas aktiv; bei der G6PD sind sie stets weniger aktiv als die Karzinomzellen, bei der LDH hingegen reagiert das Stroma teilweise ähnlich intensiv wie die Tumorzellen, so bei allen untersuchten Karzinomen vom einfachen soliden Wachstumstyp (Abb. 8 und 9).

Nebeneinanderliegende Tumorzellen, benachbarte Zellkomplexe, gelegentlich auch größere Areale des Karzinoms weisen sehr häufig Unterschiede in der Intensität des Farbniederschlags auf. Daraus resultiert ein inhomogenes, fleckiges Verteilungsmuster der Enzymaktivität im Tumorparenchym. Gelegentlich kommt es zu einer Betonung der randständigen, stromanahen Karzinomzellen von breiteren Tumorzellkomplexen.

Die generelle Aktivität der meisten Karzinome entspricht in etwa der Epithelaktivität der normalen Mamma, ausgenommen die MAO. Bei der LDH zeigt sich die Tendenz zu einem etwas gesteigerten Reaktionsausfall. Bei allen Enzymen finden sich jedoch auch Karzinomfälle mit einer teils stärkeren, teils schwächeren Aktivität.

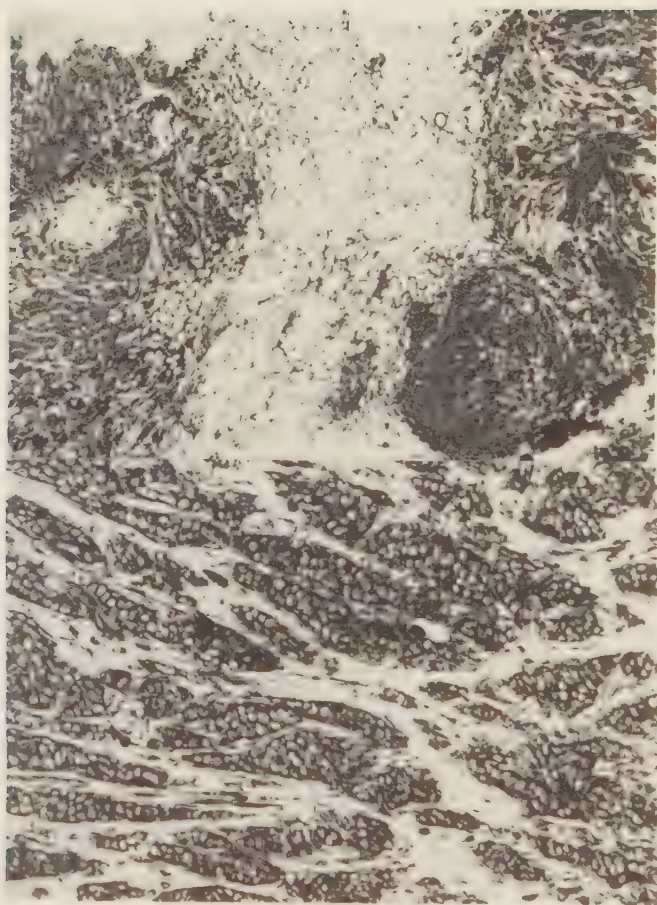


Abb. 8a und b: Histochemische Darstellung der LDH in einem Carcinoma solidum medullare in der Übersicht (a) und bei stärkerer Vergrößerung (b). Vergr. 90fach (a) und 250fach (b).

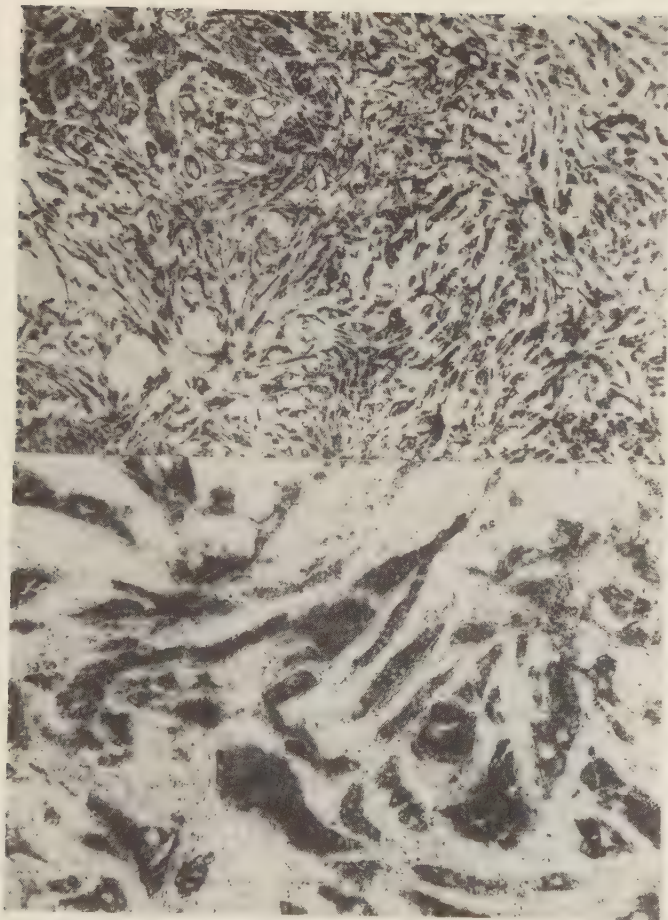


Abb. 9a und b: Histochemische Darstellung der SDH in einem Carcinoma solidum simplex in der Übersicht (a) und bei stärkerer Vergrößerung (b). Vergr. 90fach (a) und 240fach (b).

b) Adenokarzinom

Bei den Dehydrogenasen zeigt sich das gleiche fleckige Verteilungsmuster wie bei den soliden Karzinomen. In einem Fall ähnelt die Reaktionsstärke aller Enzyme der normalen Mamma, bei dem zweiten Fall zeigen die vier Dehydrogenasen eine intensivere Reaktion. Bei der MAO findet sich nur eine Niederschlagsspur.

Auch das Verhalten des Stromas entspricht weitgehend dem der soliden Karzinome; allerdings reagieren die Zellen und Fasern bei G6PD und LDH wesentlich schwächer als die Tumorzellen.

c) Komedokarzinom

Die Milchgangsepithelien, bzw. die von ihnen ausgehenden karzinomatösen Epithelproliferationen zeigen bei SDH, HBDH, G6PD und LDH stets, bei der MAO nur in einem Fall, eine sicher positive Reaktion. Im Lumen liegende nekrotische Partien verhalten sich stets negativ. Es findet sich eine ebenso fleckige Verteilung des Farbniederschlags wie bei den zuvor beschriebenen Karzinomen. Gelegentlich kommt es zu einer Markierung der nahe der Basalmembran oder am Rande der zentralen Nekrosen gelegenen Karzinomzellen. Generell findet sich ein starker Formazanniederschlag in den Tumorzellen bei HBDH, G6PD und LDH, bei der SDH hingegen nur ein geringer. Das Stromaverhalten entspricht weitgehend dem der vorher beschriebenen Karzinome. Allerdings fallen die um die Milchgänge gelegenen Zellen durch gesteigerte Aktivität und regelmäßigere, zirkuläre Anordnung

gegenüber dem restlichen Stroma auf; man ist versucht, von einem mantelgewebeartigen Verhalten zu sprechen (Abb. 10 und 11).

d) Gallertkarzinom

HBDH, G6PD und LDH reagieren wie bei den soliden Karzinomen. Die Schleimsubstanzen sind stets inaktiv. MAO und SDH verhalten sich vollkommen negativ.

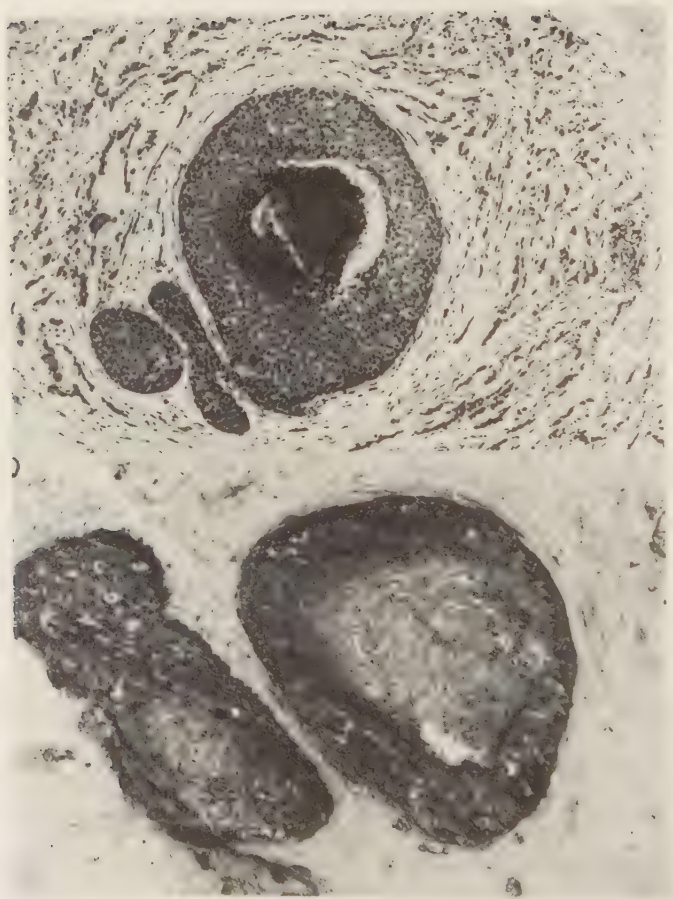


Abb. 10a und b: Comedocarcinom im HE-Präparat (a)
und bei histochemischer Darstellung der MAO (b).
Vergr. 120fach.

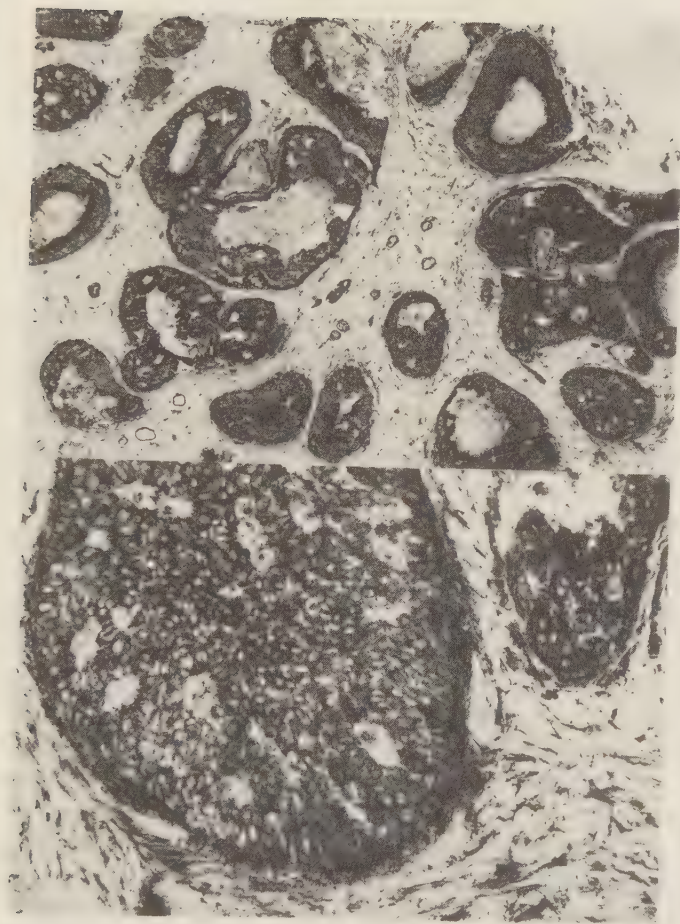


Abb. 11a und b: Histochemische Darstellung der LDH in einem Comedocarcinom in der Übersicht (a) und bei stärkerer Vergrößerung (b). Vergr. 90fach (a) und 240fach (b).

V. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, die Kenntnisse über das histochemische Verhalten der fünf untersuchten Enzyme in menschlichen Mammatumoren und Mammadysplasien zu erweitern und außerdem eine Antwort auf die Frage zu versuchen, ob sich dabei Unterschiede zwischen gutartigen und bösartigen Geschwülsten oder zwischen den Subtypen der einen oder anderen Gruppe ergeben.

Hinsichtlich der Enzymlokalisation im Gewebe haben alle bisherigen Untersuchungen übereinstimmend folgendes ergeben: die Parenchymzellen verhalten sich stets enzympositiv, so bei den gutartigen Mammatumoren die Epithelien der Alveolen und Milchgänge und bei den bösartigen die Karzinomzellen. Daß dies auch für das normale Mammagewebe der geschlechtsreifen Frau gilt, haben COHEN (1964) für die G6PD, PAKDAMAN und STEIN (1963) für die SDH und HECKER (1972 b) für SDH und LDH bestätigen können. Somit dürfte sowohl für das normale Gewebe der Brustdrüse wie für das benigne oder maligne Geschwulstgewebe grundsätzlich die Möglichkeit bestehen, die den einzelnen Enzymen zugeordneten Stoffwechselwege einzuschlagen. Die einheitliche Enzymausstattung von gutartigen und bösartigen Epithelzellen stützt auch die Annahme, daß auch die Mammakarzinome aus den Drüsen- und Milchgangsepithelien hervorgehen. Zur genauen intrazellulären Verteilung der Enzyme nehmen nur wenige Autoren Stellung (Cohen 1964; Foraker 1956; Harcourt-Webster und Truman 1969 b; Hecker 1972 a); von diesen jedoch wird die Enzymaktivität übereinstimmend im Zytoplasma lokalisiert, während der Kern sich stets enzymnegativ verhält. Die eigenen Untersuchungsergebnisse stimmen mit diesen Befunden überein.

Will man der Frage nachgehen, ob aber Unterschiede im Grad der Enzymaktivität bestehen, so ergeben sich folgende Schwierigkeiten: wenn auch die angewandten Darstellungsmethoden bei allen Autoren im Wesentlichen gleich sind, so ist doch kein Autor in jeder Hinsicht genauso verfahren wie ein anderer; neben Unterschieden in der Inkubationszeit finden sich Unterschiede bei einzelnen Bestandteilen der Inkubationslösung (z.B. andere Pufferlösung) und in der Schnittdicke. Dadurch ist die Vergleichbarkeit absoluter Angaben über die Reaktionsstärke nicht gegeben. Ebenso schränkt die visuelle Auswertung, die alle Untersucher angewandt haben, die Vergleichbarkeit von Absolutwerten ein. Daher werden im folgenden nur die Angaben über Relationen zwischen den Reaktionsstärken verwertet, die innerhalb desselben Präparates und bei verschiedenen Präparaten aufgetreten sind.

Monoaminoxidase

In Übereinstimmung mit MORI et al. (1970) zeigen sich auch in unserem Untersuchungsgut keine Unterschiede zwischen gutartigen und bösartigen Tumoren; bei den Karzinomen überwiegen zwar die gänzlich enzymnegativen Tumorproben, jedoch finden sich auch unter den Fibroadenomen und unter den Mastopathien inaktive Fallbeispiele, so daß dieses Merkmal nicht zur Unterscheidung zwischen benignen und malignen Tumoren Verwendung finden kann. Über die biologische Bedeutung der Monoaminoxidase im Tumorstoffwechsel ist bis jetzt nichts Genaueres bekannt (Mori et al. 1970), so daß offenbleiben muß, welcher Wert diesem völligen Enzymaktivitätsverlust zuzumessen ist.

Succinat-Dehydrogenase

Soweit in früheren Untersuchungen die SDH sowohl in benignen wie auch malignen Mammatumoren dargestellt worden ist, haben sich gruppenspezifische Unterschiede von der

Reaktionsstärke her nicht ergeben (Dawson 1967; Foraker 1956; Harcourt-Webster und Truman 1969 b; Jensen 1970; Melnick 1965; Monis et al. 1959; Pakdaman und Stein 1963; Wandrey 1961). Dies trifft auch für die eigenen Untersuchungen zu. Insbesondere ergibt sich kein Anhalt für eine generell niedrigere Aktivität bei den malignen Tumoren, auch nicht gegenüber normalem Mammagewebe (was als Stützung für die WARBURGsche Hypothese hätte dienen können); nicht einmal bei den Karzinomen, in denen die Lactatdehydrogenase Höchstwerte erreichte, war die SDH im Vergleich zur Reaktionsstärke des normalen Parenchyms erniedrigt. Von einigen Autoren (Wachstein et al. 1962; Meier-Ruge 1966; Melnick 1965; Melnick und Bullock 1959), die mit Ausnahme von MELNICK nur Karzinome untersucht haben, sind offenbar vom Differenzierungsgrad des Karzinoms abhängige Variationen der Enzymaktivität gefunden worden; die Tatsache, daß aber genau entgegengesetzte Abhängigkeiten von den verschiedenen Autoren angegeben werden, stellt die gegebene Deutung stark in Frage. Während WACHSTEIN et al. bei anaplastischen, also stark entdifferenzierten Karzinomen eine auffällig starke Enzymaktivität gefunden hat, geben MEIER-RUGE, MELNICK und BULLOCK gerade für entdifferenzierte Karzinome eine sehr niedrige bzw. gar keine Enzymaktivität an. In unserem Untersuchungsgut haben wir keine Beziehungen zwischen Reaktionsstärke und Differenzierungsgrad bei den Karzinomen feststellen können.

Beta-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase

In Übereinstimmung mit DAWSON (1971) finden sich auch im eigenen Untersuchungsgut bei gutartigen wie bösartigen Erkrankungen eine in beiden Gruppen recht große Variationsbreite der Reaktionsstärke und somit keine Unterschiede zwischen beiden Tumorgruppen. Unter den gutartigen Ver-

änderungen im eigenen Material zeigen die Fibroadenome zwar eine einheitliche, in der Stärke dem normalen Parenchym entsprechende Reaktionsweise, jedoch gibt es auch unter den Mastopathien und den Karzinomen Fälle mit demselben Aktivitätsgrad, ohne daß in solchen Fällen bei den Karzinomen Beziehungen zu einem bestimmten Differenzierungsgrad, etwa dem adenoiden Wachstum, auftreten; dasselbe gilt für die Mastopathien: ein normaler Aktivitätsgrad findet sich nicht bevorzugt in einer bestimmten Untergruppe. MELNICK (1965) hingegen hat für eine bestimmte Karzinomgruppe, nämlich die entdifferenzierten Karzinome, als Unterscheidungsmerkmal gegenüber gutartigen Tumoren und sonstigen Karzinomen einen "Enzymdefekt" der HBDH beschrieben, also ein vollkommen enzymnegatives Verhalten. Eine derartige Aussage läßt das eigene Untersuchungsgut nicht zu.

Lactatdehydrogenase

Auch für dieses Enzym haben sich weder in früheren Untersuchungen noch in der vorliegenden auffällige, möglicherweise differentialdiagnostisch verwendbare Unterschiede im Grad der Enzymaktivität ergeben. Es treten zwar, wenn auch nicht sehr ausgeprägte, Variationen der Reaktionsstärke unter den Tumoren auf, jedoch wiederum in beiden Tumorgruppen. Ein Hinweis für eine Betonung der anaeroben Glykolyse in malignen Mammatumoren ergibt sich enzymhistochemisch also nicht. Innerhalb der Karzinome sind einigen Autoren jedoch Unterschiede aufgefallen: MELNICK (1965) beobachtete - wie schon bei SDH und HBDH - auch bei diesem Enzym eine völlige Inaktivität der entdifferenzierten Karzinomen. Eine ähnliche Beobachtung - Anstieg der Enzymaktivität mit zunehmendem Differenzierungsgrad - machten auch HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969 b). HECKER

(1972 a und b) stellte einen besonders starken Farbniederschlag in infiltrativ wachsenden Tumorbezirken fest. Demgegenüber zeigte das eigene Untersuchungsgut wie auch das von MORI et al. (1966) keinen Zusammenhang zwischen dieser Ausbreitungsform des Tumors und der Reaktionsstärke der LDH.

Glucose-6-Phosphatdehydrogenase

Während DAWSON (1967), HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969 b), MORI et al. (1963, 1966) keine gruppenspezifischen Unterschiede im Aktivitätsgrad ermittelt haben - zu diesem Resultat kommt auch die vorliegende Untersuchung -, haben COHEN (1964) und JENSEN (1970) wenigstens bei einem Teil ihres Untersuchungsgutes Unterschiede aufgedeckt: bei COHEN verhalten sich die Karzinome mit Ausnahme einiger szirrhöser Karzinome aktiver als die gutartigen Tumoren, bei JENSEN verhalten sich nur wenige Karzinome aktiver als die benignen Geschwülste, recht viele hingegen reagieren weniger stark. Auf eine reziproke Abhängigkeit der Enzymaktivität vom Differenzierungsgrad haben HARCOURT-WEBSTER und TRUMAN (1969 b) hingewiesen; Adenokarzinome wiesen bei ihnen die niedrigste Aktivität auf. Eine Beziehung zur Art des Wachstumsprozesses hat COHEN (1964) festgestellt, derart daß intraductal wachsende Karzinomzellen sich besonders enzymaktiv zeigen, invasiv wachsende Karzinomzellen hingegen stets viel weniger aktiv sind; unser Untersuchungsgut bestätigt diese Beobachtung. Wenigstens bei einem Teil der Karzinome scheint also ein alternativer Stoffwechselweg der Glucose, nämlich der oxydative Pentoseweg, vermehrt genutzt zu werden, dessen Starterenzym die G6PD darstellt; möglicherweise ist - vielleicht aufgrund besonders intensiven Wachstums - für diese Karzinome eine vermehrte Bereitstellung von Nucleotiden bedeutsam. Diese Überlegung erscheint aber für die gutartigen Tumoren unseres Untersuchungsgutes, die sich ebenfalls wesentlich aktiver ver-

halten als normales Mammaparenchym, ebenso berechtigt; insofern erscheint es fraglich, dieses Verhalten als karzino-
nomspezifisches Verhalten anzusehen.

Wenn also Unterschiede im Grad der Enzymaktivität nicht auf den besonderen Charakter des Wachstumsprozesses zurückzuführen sind und nicht zur Unterscheidung gut-
artiger und bösartiger Mammatumoren oder der Kenn-
zeichnung bestimmter Tumortypen beitragen können, so stellt sich die Frage, welchen anderen Einflüssen sie möglicherweise unterliegen. Hormonale Stimulation er-
scheint bei der Mamma naheliegend. Diese Möglichkeit hat WANDREY (1961) für die SDH in Betracht gezogen, da er eine deutliche Steigerung der Enzymaktivität über-
wiegend bei Patientinnen vor der Menopause fand. In ex-
perimentellen Untersuchungen an weiblichen Ratten konnte unter Einwirkung von Geschlechtshormonen enzymhisto-
chemisch eine gesteigerte Aktivität der MAO (Bässler 1971), der SDH (Bässler und Paek 1968; Lani 1968) und der G6PD (Bässler und Paek 1968; Paek 1967) gezeigt werden. Die Zunahme der Enzymaktivität erschien im wesentlichen als Folge der Östrogenwirkung, nach einer gewissen Zeit blieb sie - trotz weiterer Hormonzufuhr - auf einem konstanten Niveau. Bei der LDH ergab sich keine Aktivitätszunahme unter der Einwirkung von Ge-
schlechtshormonen (Bässler und Paek 1968; Lani 1968). MELNICK und BULLOCK (1959) haben an nicht tumorös verän-
derten Drüsenläppchen in der zweiten Zyklushälfte einen An-
stieg der SDH beobachten können. Aufgrund dieser Ergeb-
nisse erscheint es durchaus als denkbar, daß die in unse-
rem Untersuchungsgut beobachtete Variationsbreite des Reaktionsausfalls, die bei der G6PD und SDH sehr ausge-
prägt war, bei der LDH jedoch nur wenig auffiel, auf hor-
monale Einflüsse zurückzuführen ist.

Es ist aber auch nicht auszuschließen, daß unterschiedliche Reaktionsausfälle teilweise methodisch bedingt sind. Die Patientinnen unseres Untersuchungsgutes gehören verschiedenen Altersgruppen an, so daß altersbedingte Schwankungen der Enzymaktivität in die Ergebnisse eingegangen sein könnten. Der genaue Zeitpunkt der Biopsieentnahme ist nicht bekannt; sollte auch die Brustdrüse eine circadiane Rhythmik ihrer Enzymaktivitäten aufweisen, könnten verschiedene Reaktionsausfälle auch dadurch bedingt sein. Ebenso haben die Zeiträume zwischen Probeexcision und Auffrieren der Gewebsprobe, wenn auch nur gering, variiert, minimale Änderungen der Schnittdicke und die visuelle Auswertung stellen weitere Einflußfaktoren dar. Umso wichtiger sind daher in demselben Schnittpreparat auftretende Verteilungsunterschiede des Farbniederschlags; sie erscheinen als besonders aussagekräftig, da für diese Gewebsprobe sowohl dieselben Umwelteinflüsse als auch dieselben methodischen Bedingungen gelten. Beispiele dafür bieten die fleckförmige Aktivitätsverteilung in Karzinomen und die Reaktionsweise der Onkozyten.

Das fleckige Verteilungsmuster der Enzymaktivität in ein- und demselben Karzinom steht im Gegensatz zur einheitlichen, gleichmäßigen Formazanablagerung in den Parenchymzellen gutartiger Mammatumoren. Ein derartiges fleckiges Verteilungsmuster fanden bei der SDH auch FORAKER (1956), MONIS et al. (1959), PAKDAMAN und STEIN (1963) und MEIER-RUGE (1966), bei der LDH auch JENSEN (1970) und bei der G6PD auch MEIER-RUGE (1966). Letzterer hat dieses Verhalten als "Spiegelbild verschieden rasch wachsender Tumorbezirke" gedeutet; MONIS et al. (1959) haben in Erwägung gezogen, daß "die verschiedenen malignen Zellen verschiedene Stoffwechselwege benutzen" und somit die Zellen desselben malignen Tumors im Hinblick

auf ihr enzymhistochemisch erfaßtes Stoffwechselverhalten eine ungleiche Zellpopulation darstellen. In elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten BUSCH und MERKER (1968) in allen untersuchten Mammakarzinomen durch den Gehalt an Zellorganellen unterschiedene Zellen nachweisen; Tumorzellen mit nur wenigen Organellen existierten neben solchen mit sehr vielen Zellorganellen. Diese Befunde lassen sich zu dem fleckigen Verteilungsmuster der Enzymaktivität in Beziehung setzen, zumindest was die ausschließlich an Zellorganellen gebundenen Enzyme betrifft wie die intramitochondrial lokalisierte SDH, HBDH und MAO.

Im Kontrast zur Mannigfaltigkeit der Ergebnisse, was das Verhalten gutartiger und bösartiger Epithelzellen der Mamma betrifft, steht die einheitliche Reaktionsweise der Onkozyten. In unserem Untersuchungsgut zeichneten sich die Onkozyten gegenüber den übrigen Drüsen- und Milchgangsepithelien stets durch den höchsten überhaupt vorkommenden Aktivitätsgrad aus. Dieser charakteristische Reaktionsausfall war bei der MAO, SDH und HBDH besonders ausgeprägt, bei der LDH hingegen nur sehr schwach. Entsprechende histochemische Befunde liegen nicht nur für die Mamma vor (Jensen 1970: G6PD; Harcourt-Webster und Truman 1969a: SDH, LDH und G6PD), sondern auch für die Schilddrüse (Fischer 1961: SDH; Tremblay und Pearse 1960: SDH, G6PD, HBDH), für Speicheldrüsen und Speicheldrüsentumoren (Balogh und Roth 1965: SDH, HBDH, LDH, G6PD; Fischer 1961: SDH; Kaufmann und Stiebitz 1969: SDH, G6PD, MAO) und die Nebenschilddrüse (Fischer 1961: SDH; Harcourt-Webster und Truman 1969 a: SDH, LDH, G6PD). Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Onkozyten in der Mamma (Archer und Omar 1969), der Parotis (Balogh und Roth 1965) und der Parathyreoidea (Trier 1958)

fiel als hervorragendes Merkmal der Onkozyten stets ein außerordentlicher Reichtum an besonders großen, teilweise auch pathologischen (Archer und Omar 1969) Mitochondrien auf. Bekanntlich sind die SDH, HBDH und MAO ausschließlich intramitochondrial lokalisiert, während LDH und G6PD auch im Hyaloplasma vorkommen. Dadurch ließe sich der gerade bei MAO, SDH und HBDH besonders intensive Reaktionsausfall in den Onkozyten erklären. Wenn auch die Onkozyten heute meist als Metaplasie des regulären ortsständigen Epithels angesehen werden (Archer und Omar 1969; Hamperl 1962; Harcourt-Webster und Truman 1969 a; Tremblay und Pearse 1960), so ist doch nach wie vor nicht entschieden, ob ihr Mitochondrienreichtum und die hohe Aktivität oxidativer Enzyme einer echten Stoffwechselsteigerung entsprechen oder als Kompensation einer Zellschädigung aufzufassen sind (Fischer 1961). SCHIEFER, HÜBNER und KLEINSASSER (1968) haben erwogen, daß eine funktionelle Mitochondriopathie sich in dem Auftreten der Onkozyten widerspiegelt. Für die Onkozyten der Mamma haben BÄSSLER und SCHÄFER (1969) einen weiteren Gesichtspunkt beige-steuert; auch sie fassen die Onkozyten als "Metaplasie des Drüsenepithels" auf und führen sie auf die langdauernde Einwirkung von Östrogenen zurück. Untermauert wird diese Deutung durch das Ergebnis eines Experimentes von SPEERT (1942) an Rhesusaffen: die Zufuhr großer Mengen von Östrogenen führte zu einer onkozytenähnlichen Epithelmetaplasie in der Affenmamma.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Das Verhalten von fünf oxidativen Enzymen, der Monoaminoxidase, der Succinatdehydrogenase, der Beta-Hydroxy-Butyrat-Dehydrogenase, der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und der Lactatdehydrogenase, wurde mit enzym-histochemischen Methoden in dysplastisch und tumorös verändertem menschlichen Mammagewebe untersucht. Das Brustdrüsengewebe entstammte insgesamt 62 Patientinnen im Alter von 20 bis 83 Jahren. Folgende Erkrankungen kamen zur Untersuchung: 4 intrakanalikuläre Fibroadenome, 26 chronische fibrös-cystische Mastopathien und 32 Karzinome.

Bei der normalen Mamma fand sich eine deutliche Markierung des Mantelgewebes durch die Lactatdehydrogenase. Bei der Mastopathia chronica fibrosa et cystica ging dieses färbetypische Verhalten des intralobulären Bindegewebes mit zunehmender Fibrosierung völlig verloren. Die übrigen Enzyme (SDH, HBDH, MAO und G6PD) zeigten im Epithel größerer Zysten eine geringere Aktivität als im normalen Drüsenepithel oder dem kleineren Zysten. Onkozytäre Epithelproliferationen und die Onkozyten selbst wiesen bei allen Enzymen den höchsten vorkommenden Aktivitätsgrad auf. Bei den Karzinomen fand sich - unabhängig vom Wachstumstyp - ein inhomogenes, fleckiges Verteilungsmuster der Enzymaktivität im Tumorparenchym. Beim Komedokarzinom fiel ein mantelgewebsartiges Verhalten des um die Milchgänge gelegenen Stromas auf.

Unterschiede, die zur Differentialdiagnose zwischen gutartigen und bösartigen Mammatumoren oder zur Kennzeichnung bestimmter Tumortypen herangezogen werden könnten, ergaben sich bei allen Enzymen weder in der Topik der Reaktionsprodukte noch in dem Aktivitätsgrad.

Dieses Ergebnis wird den aus der Literatur bekannten Befunden gegenübergestellt; es ergibt sich eine weitgehende Übereinstimmung. Das fleckige Verteilungsmuster der Enzymaktivität in Karzinomen und der stets sehr intensive Reaktionsausfall in Onkozyten werden sowohl zu früheren enzymhistochemischen als auch zu elektronenmikroskopischen Beobachtungen in Beziehung gesetzt.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

- ARCHER, F., OMAR, M.: Pink cell (oncocyctic) metaplasia in a fibroadenoma of the human breast: electron-microscope observations. J. Path. 99 (1969), 119-124
- BÄSSLER, R.: Enzymhistochemische Befunde bei verschiedenen Funktionsphasen und bei pathologischen Veränderungen. Acta histochem. Suppl. IX (1971), 605-612
- BÄSSLER, R., PAEK, S.: Histochemisches Enzymmuster der Mamma unter dem experimentellen Einfluß von Geschlechtshormonen. Histochemie 13 (1968), 28-44
- BÄSSLER, R., SCHÄFER, A.: Elektronenmikroskopische Zytomorphologie der männlichen Brustdrüse. Z. Zellf. 101 (1969), 355-366
- BALOGH, K., ROTH, S.I.: Histochemical and electron microscopic studies of eosinophilic granular cells (oncocytes) in tumors of the parotid gland. Lab. Invest. 14 (1965), 310-320
- BUSCH, W., MERKER, H.-J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an menschlichen Mammacarcinomen. Virchows Arch. Abt. A, Path. Anat. 344 (1968), 356-371
- COHEN, R.B.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in hyperplastic and neoplastic lesions of the breast. A histochemical study. Cancer 17 (1964), 1067-1072
- DAWSON, I. M. P.: Enzyme systems at cellular level. Progr. Clin. Cancer 3 (1967), 31-50

- FISCHER, R.: Über den histochemischen Nachweis oxydativer Enzyme in Onkocyten verschiedener Organe. Virchows Arch. Path. Anat. 334 (1961), 445-452
- FORAKER, A.G.: A histochemical study of breast carcinoma. Surg. Gyn. Obstet. 102 (1956), 1-8
- GLENNER, G.G., BURTNER, H.J., BROWN, G.W. jr.: The histochemical demonstration of monoamine oxidase activity by tetrazolium salts. J. Histochem. Cytochem. 5 (1957), 591-600
- HAMPERL, H.: Oncocyten und Oncocytome. Virchows Arch. Path. Anat. 335 (1962), 452-483
- HARCOURT-WEBSTER, J.N., TRUMAN, R.F.: Histochemical study of oxidative and hydrolytic enzymes in the abnormal human parathyroid. J. Path. 97 (1969 a), 687-693
- HARCOURT-WEBSTER, J.N., TRUMAN, R.F.: An enzyme histochemical study of some dehydrogenases in abnormal human mammary tissue. J. Path. 99 (1969 b), 105-112
- HECKER, D.: Über den Einfluß der PVA-Gelinkubation auf den topochemischen Nachweis der löslichen NAD-abhängigen Lactatdehydrogenase. Acta histochem. 42 (1972 a), 324-339
- HECKER, D.: Enzymhistochemische Untersuchungen zur Frage des invasiven Tumorwachstums. Acta histochem. 43 (1972 b), 132-152
- JENSEN, H.: Fibro-adenomatosis and breast carcinoma. Enzyme-histochemical studies. Acta path. microbiol. scand. (A) 78 (1970), 421-431

- KAUFMANN, F., STIEBITZ, R.: Zur Enzymhistochemie der Speicheldrüsentumoren. *Acta histochem.* 32 (1969), 221-243
- LANI, K.: Enzymhistochemische und morphologische Untersuchungen über die Prolaktineinwirkung auf die Mamma. Inaug.-Diss. Mainz 1968
- MEIER-RUGE, W.: Die diagnostische Bedeutung des Sex-chromatingehaltes in Relation von Enzymhistochemie, DNS-Gehalt und Mitoseindex beim Mammacarcinom. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 50 (1966), 330-335
- MEIER-RUGE, W., BIELSER, W. jr., WIEDERHOLD, K.H., MEYENHOFER, M.: Incubation media for routine laboratory work on enzyme histotopochemistry. *Beitr. Path.* 144 (1971), 409-431
- MELNICK, P.J.: Enzyme Patterns of tumors demonstrated histochemically in cryostat sections. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 125 (1965), 689-715
- MELNICK, P.J., BULLOCK, W.K.: Histochemical study of breast neoplasm. *Am. J. Path.* 35 (1959), 706-707
- MONIS, B., NACHLAS, M.M., SELIGMAN, A.M.: Histochemical study of 3 dehydrogenase systems in human tumors. *Cancer* 12 (1959), 1238-1247
- MORI, M., SAKAMOTO, T., SHIBA, R., KAWAMOTO, T.: Histochemical comparison of dehydrogenases related to glucose metabolism in human tumors: localization and activity of lactate, glucose-6-phosphate, and 6-phosphogluconate dehydrogenases. *Gann* 57 (1966), 627-636

- MORI, M., SUGIMURA, M., MATSUURA, H.: Histochemical observations of monoamine oxidase activity in human tumors. *Annls. Histochem.* 15 (1970), 97-111
- MORI, M., SUGIMURA, M., MATSUMURA, T., KAWASHIMA, H.: Histochemical study of the localization of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human tumors. *Gann* 54 (1963), 433-442
- NACHLAS, M. M., TSOU, K. C., DE SOUZA, E., CHENG, C. S., SELIGMAN, A. M.: Cytochemical demonstration of succine dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.* 5 (1957), 420-431
- NACHLAS, M. M., WALKER, D. G., SELIGMAN, A. M.: A histochemical method for the demonstration of diphosphopyridine nucleotide diaphorase. *J. biochem. biophys. Cytol.* 4 (1958), 29-38
- OKAMOTO, Y.: Stromal response in relation to invading forms of tumors: a histochemical and histopathological study. *Gann* 57 (1966), 563-576
- PAEK, S.: Histochemisches Enzymmuster der Mamma unter dem experimentellen Einfluß von Geschlechtshormonen. Inaug.-Diss. Mainz 1967
- PAKDAMAN, P., STEIN, A. A.: Enzyme histochemical studies on surgically resected breasts. *Archs Surg.*, Chicago (1963), 593-598
- PEARSE, A. G. E.: Histochemistry. Theoretical and applied. 3. ed. Vol. II, Churchill, London 1972
- PFLEIDERER, A. jr., KIDESS, E., JUNG, G.: Klinik und Pathologie der Lactatdehydrogenase im Ovarialcarcinom. *Z. Krebsforsch.* 72 (1969), 329-340

- RUDOLPH, G., KLEIN, H. J.: Histochemische Darstellung und Verteilung der Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase in normalen Rattenorganen. *Histochemie* 4 (1964), 238-251
- SCHIEFER, H. -G., HÜBNER, G., KLEINSASSER, O.: Riesenmitochondrien aus Onkocyten menschlicher Adenolymphome. *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.* 1 (1968), 230-239
- SPEERT, H.: "Pale epithelium" in mammary gland and its experimental production in the rhesus monkey. *Surg. Gyn. Obstet.* 74 (1942), 1098-1105
- TREMBLAY, G., PEARSE, A. G. E.: Histochemistry of oxidative enzyme systems in the human thyroid, with special reference to Askanazy cells. *J. Path. Bact.* 80 (1960), 352-358
- TRIER, J. S.: The fine structure of the parathyroid gland. *J. biophys. biochem. Cytol.* 4 (1958), 13-22
- WACHSTEIN, M., MEISEL, E., FALCON, C. (1959) zitiert nach: M. Wachstein, *Histochemistry of enzymes in tumors*. In: *Handbuch der Histochemie*, Bd. VII/2, hsg. von W. Graumann und K. Neumann. Fischer, Stuttgart 1962
- WANDREY, R.: Fermenthistochemische Untersuchungen bei Mastopathia fibrosa und Mammakarzinom. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 45 (1961), 125-128
- WARBURG, O.: On the origin of cancer cells. *Science* 123 (1956), 309-314
- WILLIGHAGEN, R. G. J.: Enzyme histochemistry in human tumors. *Beitr. Path.* 141 (1970), 280-282
- WILLIGHAGEN, R. G. J.: Enzymhistochemie in der Diagnostik maligner Tumoren. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 57 (1973), 85-88.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof.
Dr. A. Schäfer für die Überlassung
des Themas und seine freundliche Un-
terstützung

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Geboren	7.1.1948 in Wolfenbüttel/Kreis Braunschweig
Eltern	Dr. Karl-Heinz Lazar; Martha Lazar, geb. Schmidtke
Familienstand	verheiratet

Schulbildung:

1954-1966	Besuch der Albert-Schweitzer-Volksschule in Weiden/Kreis Köln und des altsprachlichen Zweiges der Kaiserin-Augusta-Schule in Köln; Abitur im November 1966 in Köln
-----------	--

Medizinstudium:

1967 - 1969	vorklinisches Studium an der Universität Köln; ärztliche Vorprüfung am 1.10.1969
1969-1972	klinisches Studium in Innsbruck, Würzburg und Mainz; ärztliche Prüfung in Mainz am 7.12.1972

Berufliche Tätigkeit:

1973-1974	Medizinalassistentin an den Universitätskliniken Mainz
22. März 1974	Erteilung der Approbation
1.5.1974 - 31.3.1975	wissenschaftliche Mitarbeiterin am Pathologischen Institut der Universitätskliniken Mainz (Abtlg. für Kinderpathologie)
seit 1.5.1975	Assistenzärztin an der Neurologisch-Psychiatrischen Klinik im Klinikum Barmer der Stadt Wuppertal

<u>Einleitung</u>	
<u>1. Teil</u>	
<u>2. Teil</u>	
<u>3. Teil</u>	
<u>4. Teil</u>	
<u>5. Teil</u>	
<u>6. Teil</u>	
<u>7. Teil</u>	
<u>8. Teil</u>	
<u>9. Teil</u>	
<u>10. Teil</u>	
<u>11. Teil</u>	
<u>12. Teil</u>	
<u>13. Teil</u>	
<u>14. Teil</u>	
<u>15. Teil</u>	
<u>16. Teil</u>	
<u>17. Teil</u>	
<u>18. Teil</u>	
<u>19. Teil</u>	
<u>20. Teil</u>	
<u>21. Teil</u>	
<u>22. Teil</u>	
<u>23. Teil</u>	
<u>24. Teil</u>	
<u>25. Teil</u>	
<u>26. Teil</u>	
<u>27. Teil</u>	
<u>28. Teil</u>	
<u>29. Teil</u>	
<u>30. Teil</u>	
<u>31. Teil</u>	
<u>32. Teil</u>	
<u>33. Teil</u>	
<u>34. Teil</u>	
<u>35. Teil</u>	
<u>36. Teil</u>	
<u>37. Teil</u>	
<u>38. Teil</u>	
<u>39. Teil</u>	
<u>40. Teil</u>	
<u>41. Teil</u>	
<u>42. Teil</u>	
<u>43. Teil</u>	
<u>44. Teil</u>	
<u>45. Teil</u>	
<u>46. Teil</u>	
<u>47. Teil</u>	
<u>48. Teil</u>	
<u>49. Teil</u>	
<u>50. Teil</u>	
<u>51. Teil</u>	
<u>52. Teil</u>	
<u>53. Teil</u>	
<u>54. Teil</u>	
<u>55. Teil</u>	
<u>56. Teil</u>	
<u>57. Teil</u>	
<u>58. Teil</u>	
<u>59. Teil</u>	
<u>60. Teil</u>	
<u>61. Teil</u>	
<u>62. Teil</u>	
<u>63. Teil</u>	
<u>64. Teil</u>	
<u>65. Teil</u>	
<u>66. Teil</u>	
<u>67. Teil</u>	
<u>68. Teil</u>	
<u>69. Teil</u>	
<u>70. Teil</u>	
<u>71. Teil</u>	
<u>72. Teil</u>	
<u>73. Teil</u>	
<u>74. Teil</u>	
<u>75. Teil</u>	
<u>76. Teil</u>	
<u>77. Teil</u>	
<u>78. Teil</u>	
<u>79. Teil</u>	
<u>80. Teil</u>	
<u>81. Teil</u>	
<u>82. Teil</u>	
<u>83. Teil</u>	
<u>84. Teil</u>	
<u>85. Teil</u>	
<u>86. Teil</u>	
<u>87. Teil</u>	
<u>88. Teil</u>	
<u>89. Teil</u>	
<u>90. Teil</u>	
<u>91. Teil</u>	
<u>92. Teil</u>	
<u>93. Teil</u>	
<u>94. Teil</u>	
<u>95. Teil</u>	
<u>96. Teil</u>	
<u>97. Teil</u>	
<u>98. Teil</u>	
<u>99. Teil</u>	
<u>100. Teil</u>	

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80